第 38 卷第 6 期　　生　态　学　报　　Vol.38,No.6
2018 年 3 月　　ACTA ECOLOGICA SINICA　　Mar.,2018

DOI: 10.5846/stxb201610192141
王英男,陶爽,华晓雨,于兴洋,阎秀峰,蔺吉祥.盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草生长及生理代谢的影响.生态学报,2018,38(6):2187-2194.
Wang Y N, Tao S, Hua X Y, Yu X Y, Yan X F, Lin J X.Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and physiological metabolism of *Leymus chinensis* under salt-alkali stress.Acta Ecologica Sinica,2018,38(6):2187-2194.

盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草生长及生理代谢的影响

王英男[1],陶　爽[1],华晓雨[1],于兴洋[2],阎秀峰[1],蔺吉祥[1,*]
1 东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心, 东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室,哈尔滨　150040
2 哈尔滨商业大学研究生学院,哈尔滨　150028

摘要:利用盆栽控制试验研究了盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草生长及生理代谢的影响。结果表明,盐碱胁迫显著降低了 AM 真菌的侵染率与侵染强度,且具有高 pH 的碱胁迫的抑制效应更强。接种 AM 真菌一定程度上提高了胁迫下羊草幼苗的生物量及光合色素(Chl a, Chl b 和 Car)含量。随着盐碱胁迫浓度的增加,羊草幼苗积累了大量的 Na^+,并抑制了其对 K^+的吸收,接种 AM 真菌一定程度上降低了 Na^+的积累,并缓解了胁迫下 K^+含量的降低,提高 NO_3^- 含量从而改善羊草幼苗的离子平衡。在碱胁迫下,柠檬酸、苹果酸含量均显著提高,在盐胁迫下,仅苹果酸含量显著提高,而接种 AM 真菌使盐碱胁迫下有机酸含量一定程度降低。在盐碱胁迫条件下,接种 AM 使羊草体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性明显提高,增强宿主植物体内氧自由基的清除能力。接种 AM 真菌明显提高羊草幼苗抗盐碱能力,因胁迫类型不同,抗逆机理有所差异。研究结果为利用羊草进行生物改良退化盐碱草地以及菌肥的应用提供了科学依据,也为探求羊草-丛枝菌根共生体对盐碱胁迫的响应和反馈提供了数据支持。

关键词:羊草;盐碱胁迫;丛枝菌根真菌;离子平衡;抗氧化酶;耐盐性

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and physiological metabolism of *Leymus chinensis* under salt-alkali stress

WANG Yingnan[1], TAO Shuang[1], HUA Xiaoyu[1], YU Xingyang[2], YAN Xiufeng[1], LIN Jixiang[1,*]
1 *Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University; Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field, Ministry of Education, Harbin* 150040, *China*
2 *Graduate School, Harbin University of Commerce, Harbin* 150028, *China*

Abstract: To clarify the role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in enhancing stress resistance in *Leymus chinensis*, the effects of AM fungi on the growth and physiological metabolism of *L. chinensis* under saline-alkali stress were investigated by conducting controlled pot experiments. The results showed that saline stress significantly reduced the colonization rate and colonization intensity of AM, and that the inhibitory effects of alkali stress were considerably stronger. Inoculation of *Glomus mosseae* enhanced the biomass and photosynthetic pigment contents (chlorophyll *a* and *b* and carotene) of *L. chinensis* seedlings under stresses. With an increase in saline-alkali stresses, there was a greater accumulation of Na^+, but K^+uptake was suppressed. Inoculation with AM fungi reduced the accumulation of Na^+, reduced the decreases in K^+ content, and enhanced the content of NO_3^-, thereby improving the ion balance of *L. chinensis* seedlings. Under alkali stress, the contents of citric acid and malic acid were increased, and under saline stress, malic acid content was significantly increased. The activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase, and ascorbate peroxidase were significantly increased by inoculation with AM, thereby enhancing the scavenging of oxygen free radicals by the host plants. The research results show

基金项目:国家自然科学基金项目(31502013);黑龙江省自然科学基金项目(C2015060)
收稿日期:2016-10-19;　　**网络出版日期**:2017-12-19

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: jixiang851012@gmail.com

that due to the high pH value, the effects of alkali stress on the mycorrhizal infection were stronger. Inoculation with AM fungi significantly enhanced the stress resistance of *L. chinensis* seedlings. The mechanism of stress resistance also differed according to stress type. On the one hand, the results provide a scientific basis for the application of *L. chinensis* to saline-alkali degraded grassland and as a bacterial fertilizer. On the other hand, they also provide the necessary data for elucidating the response and feedback of the *L. chinensis*-AM symbiosis to saline-alkali stress.

Key Words: *Leymus chinensis*; salinity-alkalinity stress; arbuscular mycorrhizal fungi; ion balance; antioxidant enzymes; salt resistance

羊草(*Leymus chinensis*),又名碱草,是禾本科赖草属根茎型多年生禾草,广泛分布于俄罗斯的外贝加尔、蒙古国的东北部以及中国东北平原西部和内蒙古高原东部等地[1]。羊草是我国东北松嫩草地的建群种,既可分布在地带性的草甸草原和典型草原中,也可群生于非地带性的盐碱地以及低洼地段上[2]。近年来,随着环境的不断恶化以及人类活动的干扰,盐碱地面积也不断地扩大,严重制约着农业及畜牧业的发展。由于羊草具有生态适应性广,可塑性强,对干旱和盐碱化生境具有较高的耐受性等特点[3]。因此,被认为是对盐碱地生物改良最有前景的牧草之一。

从枝菌根(Arbuscular mycorrhizal,AM)真菌广泛分布于各类陆地生态系统中,能与80%以上高等植物形成共生关系,促进宿主植物根系对土壤水分和矿质营养的吸收和利用,提高植物抗逆性,促进植物生长[4]。近年来,利用菌根技术提高宿主植物对盐碱胁迫环境的适应能力已经成为生物改良盐碱地研究中的热点领域。从前人的报道中可以看出,关于AM真菌提高植物抗逆性机理研究多集中于抗盐性,特别是中性盐(NaCl)的研究,如增强叶片光合能力,改变离子运输,加强渗透调节,提高抗氧化酶活性等过程[5-7],而疏于关注在碱性盐(高pH)胁迫下AM真菌与宿主植物的共生关系。事实上,由于具有较高的高pH,碱胁迫与盐胁迫是两种完全不同类型的胁迫,且对植物的抑制机理也存在着很大的差异[8-9]。为此,本实验以羊草为对象,研究不同盐碱胁迫水平下接种AM真菌对羊草生长及多余生理代谢的影响,一方面可以明确盐碱胁迫下AM真菌与羊草共生关系,另一方面也为利用羊草进行生物改良盐碱地及菌根的应用提供一定依据。

1 材料方法

1.1 材料与设计

本实验培养羊草幼苗基质为农田土、河沙混合(体积比3:1),培养基质置于高压蒸汽灭菌锅中(日本三洋公司,型号:MLS-3780),在121℃、240 kPa条件下高温、高压灭菌2 h,以消除土壤中可能存在的真菌孢子及其他土壤微生物,风干备用。盆钵为塑料盆,上口内径15 cm,盆底内径12 cm,高12 cm,用10% H_2O_2浸泡15 min,风干后每盆装灭菌混合土2 kg。接种所用的*Glomus mosseae*(BGC HEB02)由北京农林科学院植物营养与资源研究所提供。接种体由土壤、孢子(孢子密度为3000/20 mL)、菌丝组成。接种处理将20 g接种物放入种子下方2 cm左右深的土层处,不接菌处理每盆加入20 g灭菌的菌种。不接种处理中施加等量的灭菌接种物和不灭菌接种物水滤液20 mL,以保证不同处理间除AM真菌以外的微生物区系保持一致。供试羊草种子(千粒重约为2.4 g)于2013年7月采自我国吉林省长岭县松嫩草地西南部,东北师范大学草业科学定位研究站的人工羊草草地。地理位置为123°44′E,44°44′N。挑选饱满一致的羊草种子,用0.1%的$HgCl_2$溶液消毒10 min,然后再用蒸馏水冲洗3遍,在自然条件下风干。将消毒后的羊草种子置于铺有湿润双层滤纸的培养皿中于20—30℃变温培养箱中24 h促进羊草种子萌发。萌发后的幼苗移栽至盆中,每日用0.5倍的Hoagland营养液250 mL浇灌。实验全程在温室内进行,平均温度25℃。出苗120 d后,开始进行胁迫处理。本实验设置0 mmol/L(CK)、100 mmol/L NaCl(S1)、200 mmol/L NaCl(S2)、100 mmol/L $NaHCO_3$(A1)、200 mmol/L $NaHCO_3$(A2)5个处理组,每组处理设置接种处理(+AM)、未接种处理(-AM)。每个处理共4次重复,胁迫处理共7 d。

1.2 测定指标与方法

植株收获时菌根侵染率按 Phillips 和 Hayman 方法测定[10]。羊草叶片干重采用称重法测定,叶绿素含量采用比色法测定,脯氨酸采用茚三酮比色法[11],阳离子采用原子吸收分光光度计测定(TAS-990, Purkinje General, 北京),阴离子、有机酸采用离子色谱测定(美国戴安公司生产 DX-300 离子色谱系统,有机酸:ICE-AS6 分析柱、阴离子:AS4A-SC 色谱柱),抗氧化酶含量采用比色法测定。

相关公式如下:

菌根的侵染率 $F\%$ = 被侵染的根段数/镜检总根段数×100%

菌根侵染密度 $M\% = (95\times n_5+70\times n_4+30\times n_3+5\times n_2+n_1)$/镜检总根段数

式中,n_5:第五级的根段数,其他依此类推。

1.3 数据分析

本试验数据处理采用 SPSS 软件(Version 13.0, SPSS Inc, Chicago, Illinois),采用 Duncan 方法进行多重比较,显著水平为 0.05。采用双因素方差分析接种 AM 真菌和盐碱胁迫二者之间的交互效应。

2 结果与分析

2.1 盐碱胁迫下菌根侵染率及 AM 真菌对羊草幼苗生长及光合色素含量的影响

由表 1 可得,随盐碱胁迫程度的增加,菌根侵染率与侵染强度均呈下降趋势,且在碱胁迫中下降幅度更大。在 200 mmol/L NaCl 处理下菌根侵染率与侵染强度分别为 88.67%和 23.78%,而在 200 mmol/L $NaHCO_3$ 处理下,菌根侵染率与侵染强度仅为 63.33%和 18.55%。

表 1　盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草菌根侵染和生长的影响

Table 1　Effects of AM fungi on the mycorrhizal colonization and growth in *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress

胁迫 Stress	菌根 Mycorrhizal	侵染率/% Colonization rate	侵染强度/% Colonization intensity	干重/g Dry weight	叶绿素 a Chl a/(mg/g)	叶绿素 b Chl b/(mg/g)	类胡萝卜素 Car/(mg/g)
CK	-AM	-	-	0.34±0.03a	5.60±0.01a	9.57±0.69a	1.90±0.13a
	+AM	97.33±1.33A	44.46±1.22A	0.49±0.03A	5.76±0.08A	9.77±0.13A	2.11±0.10A
S1	-AM	-	-	0.27±0.01b	5.60±0.08a	8.80±0.04a	1.74±0.02a
	+AM	92.00±1.00B	31.64±1.39B	0.37±0.04B	5.97±0.19A	9.40±0.32AB	5.97±0.19A
S2	-AM	-	-	0.24±0.01b	5.15±0.15b	8.10±0.10b	1.66±0.01a
	+AM	88.67±0.67B	23.78±0.63C	0.31±0.02B	5.72±0.17A	8.82±0.12B	5.72±0.17A
AM		* * *	* * *	* * *	* *	N.S.	* *
S		* * *	* * *	* * *	*	* *	* *
AM×S		* * *	* * *	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
CK	-AM	-	-	0.34±0.03a	5.60±0.01a	9.57±0.69a	1.90±0.13a
	+AM	97.33±1.33A	44.46±1.22A	0.49±0.03A	5.76±0.08A	9.77±0.13A	2.11±0.10A
A1	-AM	-	-	0.25±0.01b	5.23±0.15a	7.57±0.15a	1.62±0.04ab
	+AM	79.33±1.76B	23.12±0.97B	0.25±0.02B	5.64±0.18A	8.94±0.07B	1.71±0.02B
A2	-AM	-	-	0.20±0.02b	4.70±0.17b	7.33±0.21b	1.45±0.03b
	+AM	63.33±1.67C	18.55±1.50C	0.21±0.03B	5.43±0.20A	8.13±0.12C	1.61±0.03B
AM		* * *	* * *	* *	* *	* *	* *
A		* * *	* * *	* * *	* *	* * *	* * *
AM×A		* * *	* * *	*	N.S.	N.S.	N.S.

CK: 对照处理, S1: 100 mmol/L NaCl 处理,S2: 200 mmol/L NaCl 处理,A1: 100 mmol/L $NaHCO_3$处理,A2: 200 mmol/L $NaHCO_3$处理, -AM: 未接种处理, +AM: 接种处理;表中同一列不同大写(小写)字母表示在不同盐碱胁迫水平下接种 AM 真菌处理(未接种 AM 真菌处理)在 5%水平上差异显著; *: $P<0.05$, * *: $P<0.01$, * * *: $P<0.001$, NS: $P>0.05$

碱胁迫和丛枝菌根对羊草幼苗干重有显著交互效应($P<0.05$)。在盐碱胁迫处理下,羊草幼苗的干重与

对照组相比均显著降低($P<0.05$),但不同浓度处理组间无显著差异,且在碱胁迫处理中下降幅度更大,与对照组相比下降了41.18%,而盐胁迫处理仅与对照组相比下降了29.41%。这说明盐碱胁迫严重的影响了羊草幼苗的生长,且碱胁迫对羊草幼苗生长的抑制作用更大。接种AM真菌显著地促进了盐胁迫下羊草幼苗的生长,其干重显著高于未接种处理($P<0.05$),与未接种AM真菌处理相比在100、200 mmol/L NaCl处理下干重分别提高37.04%和29.17%,而在碱胁迫处理下接种AM真菌并未对羊草幼苗干重产生显著影响。

随盐碱胁迫程度的增加,Chl a、Chl b和Car含量均呈下降趋势($P<0.05$)。在对照处理中,接种AM真菌并未提高羊草幼苗各光合色素含量。在盐胁迫处理中,接种AM真菌显著提高了Chl a和Car的含量,而接种AM真菌仅在200 mmol/L NaCl处理下提高了Chl b含量。在碱胁迫处理中,接种AM真菌显著提高了各光合色素的含量($P<0.05$),且在200 mmol/L $NaHCO_3$处理下Chl b含量提高幅度最大(18.10%)。

2.2 盐碱胁迫下AM真菌对羊草主要无机离子含量的影响

盐碱胁迫和丛枝菌根对羊草幼苗Na^+、K^+含量有显著交互效应($P<0.05$)。随盐碱胁迫浓度的提高,羊草幼苗Na^+含量显著增加,伴随着Na^+含量的增加K^+含量呈显著下降趋势($P<0.05$),且在碱胁迫条件下两种阳离子变化幅度更大。接种AM真菌并未影响对照组中Na^+、K^+含量,而在盐碱胁迫处理下接种AM真菌显著降低了羊草幼苗体内Na^+含量。与盐碱胁迫下Na^+变化不同,接种AM真菌提高了碱胁迫及高浓度盐胁迫下羊草幼苗体内K^+含量,而在低浓度盐胁迫下接种AM真菌对K^+含量无显著影响。盐胁迫和丛枝菌根对羊草幼苗Cl^-含量有显著交互效应($P<0.05$)。随着盐胁迫浓度的增加,羊草幼苗体内Cl^-含量显著增加($P<0.05$),而接种AM真菌使Cl^-含量显著降低,与盐胁迫下变化趋势不同,在碱胁迫处理下,不同浓度的碱处理、接种AM真菌均未对羊草幼苗Cl^-含量产生显著影响。接种AM真菌显著提高了对照组中NO_3^-含量,而在盐碱胁迫处理中,接种AM真菌仅使200 mmol/L NaCl处理下羊草幼苗NO_3^-含量显著下降($P<0.05$)(表2)。

表2 盐碱胁迫下AM真菌对羊草无机离子的影响

Table 2 Effects of AM fungi on the inorganic ions in *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress

胁迫 Stress	菌根 Mycorrhizal	钠离子/(μmol/g) Na^+	钾离子/(μmol/g) K^+	氯离子/(μmol/g) Cl^-	硝酸根/(μmol/g) NO_3^-
CK	-AM	52.70±2.69a	1002.57±10.23a	196.58± 7.50a	775.28±17.19a
	+AM	52.62±1.28A	979.94±21.88A	202.53± 1.71A	860.09±15.98A
S1	-AM	163.25±4.47b	883.04± 2.84b	467.04± 6.67b	571.10±16.45b
	+AM	137.39±2.27B	893.65± 3.43B	428.65±10.05B	582.74±22.10B
S2	-AM	202.91±3.48c	805.71± 7.25c	569.13± 3.46c	529.21± 5.19b
	+AM	166.24±2.23C	857.34± 3.98B	533.98±11.67C	590.16±13.44B
AM		***	N.S.	**	**
S		***	***	***	***
AM×S		***	*	*	N.S.
CK	-AM	52.70±2.69a	1002.57±10.23a	196.58± 7.50a	775.28±17.19a
	+AM	52.62±1.28A	979.94±21.88A	202.53± 1.71A	860.09±15.98A
A1	-AM	203.37±2.40b	696.34±10.20b	185.87±11.44a	540.76±14.14b
	+AM	179.89±5.42B	753.23± 3.55B	186.12± 5.28A	562.63±11.76B
A2	-AM	260.60±4.42c	666.71± 3.01c	163.00± 8.88a	474.30±13.29c
	+AM	211.60±3.52C	715.52± 7.85B	188.36±15.69A	506.22± 6.97C
AM		***	*	N.S.	***
A		***	***	N.S.	***
AM×A		***	**	N.S.	N.S.

CK:对照处理,S1:100 mmol/L NaCl,处理S2:200 mmol/L NaCl,处理A1:100 mmol/L,$NaHCO_3$处理,A2:200 mmol/L $NaHCO_3$处理,-AM:未接种处理,+AM:接种处理;表中同一列不同大写(小写)字母表示在不同盐碱胁迫水平下接种AM真菌处理(未接种AM真菌处理)在5%水平上差异显著;*:$P<0.05$,**:$P<0.01$,***:$P<0.001$,NS:$P>0.05$

2.3 盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草有机溶质的影响

盐碱胁迫和丛枝菌根对羊草幼苗脯氨酸含量有显著交互效应($P<0.05$)。随着盐碱胁迫浓度的增加,接种 AM 真菌组与未接种组脯氨酸含量均呈显著上升趋势($P<0.05$)。在对照组中,接种 AM 真菌并未影响羊草幼苗体内脯氨酸含量。而在盐碱胁迫处理中,接种 AM 真菌显著降低了脯氨酸含量,且在 200 mmol/L NaCl 处理下效果更为显著,与未接种组相比降低了 65.80%。碱胁迫处理显著提高了羊草幼苗体内柠檬酸含量($P<0.05$),接种 AM 真菌,仅使对照组羊草幼苗柠檬酸含量显著降低,而在盐碱胁迫处理中,接种 AM 真菌并未对柠檬酸含量产生显著影响。与柠檬酸类似,碱胁迫处理同样显著提高了羊草幼苗体内苹果酸含量($P<0.05$),而接种 AM 真菌仅使 200 mmol/L NaCl 处理的羊草幼苗体内苹果酸含量显著下降(31.46%)(表 3)。

表 3　盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草有机溶质的影响

Table 3　Effects of AM fungi on the organic solutes in *Leymus chinensis* seedings under salt-alkali stress

胁迫 Stress		菌根 Mycorrhizal	脯氨酸/(μmol/g 干重) Proline	柠檬酸/(μmol/g 干重) Citric acid	苹果酸/(μmol/g 干重) Malate acid
CK		−AM	7.45±0.02a	11.01±0.14a	14.90±1.85a
		+AM	7.43±0.35A	7.89±0.25A	13.60±1.02A
S1		−AM	16.71±1.08a	11.20±0.54a	15.18±2.04a
		+AM	13.67±1.49B	8.52±1.19A	15.01±2.50A
S2		−AM	47.36±6.37b	11.28±0.29a	19.02±0.58a
		+AM	16.20±0.59B	10.20±1.19A	19.39±2.10A
	AM		* * *	* * *	N.S.
	S		* * *	N.S.	*
	AM×S		* * *	N.S.	N.S.
CK		−AM	7.45±0.02a	11.01±0.14a	14.90±1.85a
		+AM	7.43±0.35A	7.89±0.25A	13.60±1.02A
A1		−AM	21.16±0.65b	19.91±1.69b	22.78±1.79b
		+AM	9.55±0.97A	15.36±2.07B	19.59±1.34B
A2		−AM	30.57±2.36c	21.31±0.99b	29.53±1.93c
		+AM	17.37±3.47B	19.05±2.34B	20.24±1.61B
	AM		* * *	*	* *
	A		* * *	* * *	* * *
	AM×A		* *	N.S.	N.S.

CK: 对照处理, S1: 100 mmol/L NaCl 处理,S2: 200 mmol/L NaCl 处理,A1: 100 mmol/L $NaHCO_3$处理,A2: 200 mmol/L $NaHCO_3$处理, −AM: 未接种处理, +AM: 接种处理;表中同一列不同大写(小写)字母表示在不同盐碱胁迫水平下接种 AM 真菌处理(未接种 AM 真菌处理)在 5%水平上差异显著; *:$P<0.05$, * *: $P<0.01$, * * *: $P<0.001$, NS:$P>0.05$

2.4 盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草抗氧化酶活性的影响

盐碱胁迫和丛枝菌根对羊草幼 SOD、POD 活性有显著交互效应($P<0.05$),而 APX 仅受到碱胁迫和丛枝菌根交互作用的影响($P<0.05$)。随着盐胁迫浓度的增加,未接种 AM 真菌处理 SOD 活性呈显著下降趋势,而与盐胁迫处理不同,在碱胁迫下随胁迫浓度提高 SOD 活性呈显著上升趋势($P<0.05$)。接种 AM 真菌显著提高了各处理组下 SOD 活性,且在 200 mmol/L NaCl 处理组中提高幅度最大,与未接种组相比提高了 23.4 倍。接种 AM 真菌显著提高了各处理组中 POD、CAT 活性,SOD 活性在 200 mmol/L NaCl 处理组中提高更为显著(88.30%),而 CAT 活性在 200 mmol/L $NaHCO_3$处理组中提高更为显著(73.27%)。除在 100 mmol/L $NaHCO_3$处理中,接种 AM 真菌对 APX 活性无显著影响外,在其他处理中接种 AM 真菌使 APX 活性显著上升($P<0.05$)(表 4)。

表 4 盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草抗氧化酶的影响

Table 4 Effects of AM fungi on the antioxidant enzymes in *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress

胁迫 Stress	菌根 Mycorrhizal	超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg 鲜重)	过氧化物酶 POD/(U/mg 鲜重)	过氧化氢酶 CAT/(U/mg 鲜重)	抗坏血酸过氧化物酶 APX/(U/mg 鲜重)
CK	-AM	22.43±2.38a	1.35±0.08a	0.51±0.06a	4.28±0.20a
	+AM	70.73±2.16A	1.75±0.18A	0.60±0.02A	6.63±0.61A
S1	-AM	10.94±0.84b	1.17±0.13ab	0.65±0.01a	3.84±0.19a
	+AM	84.85±2.49A	1.34±0.03B	0.87±0.02B	6.43±0.54A
S2	-AM	4.88±0.10c	0.98±0.05b	0.86±0.08b	4.41±0.16a
	+AM	119.24±10.96B	1.84±0.05A	0.94±0.02B	6.87±0.55A
AM		* * *	* * *	* *	* * *
S		*	*	* * *	N.S.
AM×S		* * *	*	N.S.	N.S.
CK	-AM	22.43±2.38a	1.35±0.08a	0.51±0.06a	4.28±0.20a
	+AM	70.73±2.16A	1.75±0.18A	0.60±0.02A	6.63±0.61A
A1	-AM	48.88±2.54b	1.46±0.04a	0.82±0.05b	5.55±0.09b
	+AM	75.87±2.76A	1.62±0.04A	1.07±0.18B	5.74±0.41A
A2	-AM	68.40±4.52c	1.73±0.046b	0.82±0.04b	5.94±0.11b
	+AM	92.89±3.431B	2.62±0.25B	1.42±0.15B	6.91±0.11A
AM		* * *	* * *	* *	* * *
A		* * *	* * *	* * *	*
AM×A		* *	*	N.S.	*

SOD: Superoxide dismutase, POD: Peroxidase, CAT: Catalase, APX: Ascorbate peroxidase, CK: 对照处理 S1: 100 mmol/L NaCl 处理,S2: 200 mmol/L NaCl 处理,A1: 100 mmol/L $NaHCO_3$ 处理,A2: 200 mmol/L $NaHCO_3$ 处理, -AM: 未接种处理, +AM: 接种处理;表中同一列不同大写(小写)字母表示在不同盐碱胁迫水平下接种 AM 真菌处理(未接种 AM 真菌处理)在 5%水平上差异显著; * :$P<0.05$, * * : $P<0.01$, * * * : $P<0.001$, NS:$P>0.05$

3 讨论

3.1 菌根侵染与苗期生长

试验结果表明,随着盐、碱胁迫强度的增加,AM 真菌的侵染率、侵染强度均呈下降趋势,说明盐碱胁迫可以使 AM 真菌生长受阻,从而导致 AM 真菌侵染能力下降[12-13]。盐碱胁迫对菌根侵染的影响一方面与其抑制了孢子萌发有关,另一方面也与其抑制菌丝生长有一定的关联。另外,在碱胁迫下,菌根的侵染率、侵染强度较盐胁迫更低,进一步说明具有高 pH 碱胁迫的毒害效应更强,而其中主要的原因可能是由于在高 pH 的碱胁迫下,植物通常会受到更强的抑制作用,根系损伤严重,不仅吸收水分与营养物质的能力降低,植物体内大量的有毒代谢物质通过根分泌进入土壤,这也一定程度上影响了孢子萌发与菌丝体的生长发育。有研究表明,AM 真菌的生长代谢需要消耗宿主植物大约 10%—20%的光合作用产物。AM 真菌与宿主植物建立共生关系后,一方面通过 AM 的丛枝及菌丝体等结构扩大宿主植物根系营养吸收面积,使植物根系获得充分的矿质营养,促进其生长发育;另一方面 AM 真菌通过宿主植物提供光合作用产物来满足自身生长代谢所需的碳水化合物。因此,菌根的存在对宿主植物和 AM 真而言是互惠互利,而在逆环境下这种作用更为明显。在研究中发现接种 AM 显著提高了盐胁迫下羊草的干重,这可能是由于 AM 增加了羊草根系的养分吸收面积,促进了宿主植物对养分、水分等的吸收,同时也提高了宿主植物体内光合色素含量,促进了光合作用,提高了宿主植物的干物质积累,从而提高了羊草幼苗的耐盐性,促进其生长。而在碱胁迫条件下,由于碱胁迫除渗透胁迫和离子毒害外,还具有盐胁迫所不具备的高 pH 多余伤害,这也使得高 pH 与有毒 Na^+的互效大于单纯有毒离子对 AM 共生体的伤害,这也解释了在碱胁迫条件下接种 AM 真菌对宿主植物生长抑制改善不明显的原因。

3.2 盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草离子平衡的影响

盐碱胁迫下,土壤中过量的 Na^+影响植物对 K^+等离子的吸收及其在细胞内的区域化分布,导致离子稳态

破坏。本研究表明,随盐、碱胁迫程度的提高羊草叶片 Na^+ 含量也呈增加趋势,伴随着 K^+ 的亏缺,且在盐胁迫下伴随着 Na^+ 含量的大幅上升,羊草叶片 Cl^- 含量也显著增加。产生这种现象一放面由于 Na^+ 和 K^+ 相互竞争减少了植物对 K^+ 的吸收,另一方面是 Na^+ 影响了生物膜对离子的选择性,进而影响了羊草对离子的吸收所造成的。保持植物体及细胞内的离子平衡对植物正常的生长发育至关重要[14-15],接种 AM 真菌可以提高盐、碱胁迫下植物根系液泡膜 H-ATPase、H-PPiase 和液泡 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白的活性,保持液泡膜和质膜的完整性,调控矿质离子的吸收、运转和分配,从而提高宿主植物抗逆性[16-17]。研究中发现,接种 AM 真菌缓解了盐、碱胁迫下羊草 K^+ 含量的降低,减少了 Na^+ 的累积,同时降低了 Cl^- 含量、提高 NO_3^- 含量从而改善 AM 共生体的离子平衡,这很可能是 AM 真菌增强羊草耐盐性的主要原因之一。

3.3　盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草渗透调节物质的影响

植物能够合成各种渗透调节物质进行渗透调节以增加自身的耐盐碱性,积累脯氨酸等渗透调节物质是在渗透胁迫下植物体维持渗透平衡的一种保护机制[18]。许多研究表明,AM 可通过促进盐碱胁迫下菌根植株体内脯氨酸的积累,从而维持细胞内较低的渗透势,保持胞内的水分,维持细胞正常生理代谢[19-20]。与多数研究不同的是,在本研究中我们发现在盐碱胁迫下接种 AM 真菌后共生体内的脯氨酸没有明显的积累,与未接种处理相比下降显著,这与 Rabie 和 Almadini 对蚕豆(*Vicia faba*)的研究结果相一致[21]。有研究认为,脯氨酸等渗透物质的含量大小可以反映植物遭受胁迫的程度,因此该结果也可以反映在盐碱胁迫下接种 AM 真菌极大的减轻了植物所遭受的伤害,这与在盐碱胁迫下 AM 改善宿主植物的养分吸收、限制 Na^+ 吸收及向地上部分转移有着密切联系。本研究中我们发现,在碱胁迫下,柠檬酸、苹果酸含量均显著提高。而在盐胁迫下,仅苹果酸含量明显提高。该结果一方面说明,羊草能够通过有机酸的积累来提高自身的抗盐碱性,另一方面也说明不同的胁迫类型,对羊草幼苗有机酸积累的种类有着不同的影响[22-23]。当接种 AM 真菌后,发现接种 AM 真菌使盐碱胁迫下有机酸含量呈现明显降低,这与 AM 真菌与植物形成共生体后,有毒 Na^+ 含量降低有着密不可分的关系。

3.4　盐碱胁迫下 AM 真菌对羊草抗氧化酶系统的影响

植物体内存在着酶促(SOD、POD、CAT、APX 等)活性氧自由基清除系统,对维持膜结构的完整性和防御活性氧自由基对膜脂的攻击引起的伤害有重要作用。正常情况下,SOD、POD、CAT 和 APX 及其他保护性物质能够维持自由基在植物体内产生和清除的动态平衡。当植物处于盐碱胁迫条件下时,植物体内 SOD、POD、CAT 和 APX 活性会增加,其中 SOD 催化超氧阴离子自由基的歧化反应形成氧分子和过氧化氢,CAT 和 POD 则进一步分解过氧化氢形成水,而 APX 则在 AsA-GSH 氧化还原途径清除活性氧的的过程中发挥重要作用。本实验结果表明,在盐碱胁迫条件下,接种 AM 真菌显著地提高了 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性,增强宿主植物体内氧自由基的清除能力,减轻了由于超氧阴离子和 MDA 的产生导致的幼苗活性氧伤害和膜脂过氧化,从而提高其对盐碱胁迫的抵御能力。

4　结论

由于具有高 pH,碱胁迫对菌根侵染以及羊草生长的抑制作用更强。AM 真菌能够通过植物的光合作用,抗氧化酶、渗透调节物质等方面改善宿主植物组织的渗透平衡、减轻离子毒害,大幅提高宿主植物的耐盐碱能力,从而缓解盐碱胁迫对植物的伤害,有利于植物在盐碱环境下的生长。接种 *Glomus mosseae* 提高了羊草抗盐碱胁迫能力,促进了在盐碱胁迫条件下羊草幼苗的生长。

参考文献(References):

[1] 李博. 中国的草原. 北京: 科学出版社, 1990: 15-16.
[2] 祝廷成. 羊草生物生态学. 长春: 吉林科学技术出版社, 2004: 2-3.
[3] 李晓宇, 蔺吉祥, 李秀军, 穆春生. 羊草苗期对盐碱胁迫的生长适应及 Na^+、K^+ 代谢响应. 草业学报, 2013, 22(1): 201-209.
[4] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd ed. London: Academic Press, 1997: 11-32.

[5] 杨海霞, 刘润进, 郭绍霞. AM 真菌摩西球囊霉对盐胁迫条件下高羊茅生长特性的影响. 草业学报, 2014, 23(4): 195-203.
[6] 曹岩坡, 代鹏, 戴素英, 贺超兴. 丛枝菌根真菌(AMF)对盐胁迫下芦笋幼苗生长及体内 Na^+、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+} 含量和分布的影响. 生态学杂志, 2015, 34(6): 1699-1704.
[7] 杨海霞, 李士美, 郭绍霞. 丛枝菌根真菌对紫薇耐盐性的影响. 植物生理学报, 2014, 50(9): 1379-1386.
[8] 杨春武, 李长有, 尹红娟, 鞠淼, 石德成. 小冰麦(*Triticum aestivum-Agropyron intermedium*)对盐胁迫和碱胁迫的生理响应. 作物学报, 2007, 33(8): 1255-1261.
[9] 杨春武, 李长有, 张美丽, 刘杰, 鞠淼, 石德成. 盐、碱胁迫下小冰麦体内的 pH 及离子平衡. 应用生态学报, 2008, 19(5): 1000-1005.
[10] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55(1): 158-163.
[11] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2006: 23-25.
[12] 郭艳妮. 不同耐盐性苜蓿接种丛枝菌根真菌对盐胁迫的生理响应[D]. 太谷: 山西农业大学, 2015: 9-10.
[13] 毕琪. 丛枝菌根真菌对羊草耐盐性及生长效应分析[D]. 长春: 东北师范大学, 2006: 11-15.
[14] 吴雪霞, 陈建林, 查丁石. 低温胁迫对茄子幼苗叶片光合特性的影响. 华北农学报, 2008, 23(5): 185-189.
[15] 郭培国, 陈建军, 郑燕玲. 氮素形态对烤烟光合特性影响的研究. 植物学通报, 1999, 16(3): 262-267.
[16] 赵长江, 薛盈文, 杨克军, 王玉凤, 李蒙蒙, 高中超, 赵瑞广. 外源钙对盐胁迫下玉米幼苗不同器官离子含量的影响. 玉米科学, 2012, 20(3): 68-72.
[17] 宁建凤, 郑青松, 杨少海, 邹献中, 孙丽丽, 陈勇. 高盐胁迫对罗布麻生长及离子平衡的影响. 应用生态学报, 2010, 21(2): 325-330.
[18] 邵晶, 郑青松, 刘兆普, 宁建凤. 磷对海水胁迫下芦荟幼苗离子分布的影响. 生态学报, 2005, 25(12): 3167-3171.
[19] 徐静, 董宽虎, 高文俊. 丛枝菌根真菌提高植物耐盐能力的作用机制. 草业与畜牧, 2010, (6): 5-8.
[20] Feng G, Zhang F S, Li X L, Tian C Y, Tang C X, Rengel Z. Uptake of nitrogen from indigenous soil pool by cotton plant inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2002, 33(19-20): 3825-3836.
[21] Peng Y L, Gao Z W, Gao Y, Liu G F, Sheng L X, Wang D L. Eco-physiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt-alkaline stresses. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(1): 29-39.
[22] Sharifi M, Ghorbanli M, Ebrahimzadeh H. Improved growth of salinity-stressed soybean after inoculation with salt pre-treated mycorrhizal fungi. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(9): 1144-1151.
[23] Rabie G H, Almadini A M. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of Vicia faba plants under salinity stress. African Journal of Biotechnology, 2005, 4(3): 210-222.

